МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 33438— 2015

ПРОДУКЦИЯ СОКОВАЯ

Определение пролина спектрофотометрическим методом

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2016

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Некоммерческой организацией «Российский союз производителей соков» (РСПС)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (Росстандарт)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 27 октября 2015 г. № 81-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 13 ноября 2015 г. № 1806-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 33438—2015 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2017 г.

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок – в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования – на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (*gost.e-ecolog.ru

© Стандартинформ, 2016

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ПРОДУКЦИЯ СОКОВАЯ
Определение пролина спектрофотометрическим методом

Juice products.
Determination of proline by spectrophotometric method

Дата введения — 2017—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на фруктовые и овощные соки, нектары, сокосодержащие напитки, в том числе обогащенные и предназначенные для детского питания, фруктовые и овощные концентрированные соки, пюре и концентрированные пюре, морсы и концентрированные морсы (далее – соковая продукция) и устанавливает спектрофотометрический метод определения (измерения) массовой концентрации пролина.

Диапазон измерений массовой концентрации пролина – от 5 до 500 мг/дм^3 включительно.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 12.1.004—91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.005—88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

ГОСТ 12.1.007—76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.018—93 Система стандартов безопасности труда. Пожаровзрывобезопасность статического электричества. Общие требования

ГОСТ 12.1.019—79* Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ OIML R 76-1—2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ ISO 3696—2013** Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы испытаний

ГОСТ 4166—76 Реактивы. Натрий сернокислый. Технические условия

ГОСТ ИСО 5725-1—2003*** Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения

ГОСТ ИСО 5725-6—2003*[4] Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

ГОСТ 5848—73 Реактивы. Кислота муравьиная. Технические условия

ГОСТ ISO 7886-1—2011 Шприцы инъекционные однократного применения стерильные. Часть 1. Шприцы для ручного использования

---

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р 12.1.019–2009 «Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты».

** В Российской Федерации действует ГОСТ Р 52501–2005 «Вода для лабораторного анализа. Технические условия».

*** В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-1–2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения».

*[4] В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-6–2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике».

ГОСТ 14919—83 Электроплиты, электроплитки и жарочные электрошкафы бытовые. Общие технические условия

ГОСТ ИСО/МЭК 17025—2009 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий

ГОСТ 22300—76 Реактивы. Эфиры этиловый и бутиловый уксусной кислоты. Технические условия

ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 26313—2014 Продукты переработки фруктов и овощей. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 26671—2014 Продукты переработки фруктов и овощей, консервы мясные и мясорастительные. Подготовка проб для лабораторных анализов

ГОСТ 29169—91 (ИСО 648—77) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой

ГОСТ 29227—91 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

Примечание – При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Сущность метода

Метод основан на реакции пролина с нингидрином с образованием окрашенного комплексного соединения, экстракции его этилцеллозольвом и последующем измерении оптической плотности полученного экстракта с помощью спектрофотометра при длине волны 509 нм.

4 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, реактивы и материалы

Весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1 с пределом допускаемой погрешности однократного взвешивания ± 0,005 г.

Спектрофотометр однолучевой, позволяющий проводить измерения при длине волны 509 нм, с допускаемой погрешностью измерений коэффициента пропускания ± 1 %, оснащенный программным обеспечением для сбора и обработки данных, обеспечивающим:

- преобразование непрерывно сканируемого сигнала в виде спектра;
- сканирование оптической плотности в заданном диапазоне длин волн с заданным шагом (от 1 до 10 нм);
- создание и сохранение градуировок и автоматическим расчетом концентрации на их основе.

Колбы мерные 2а-100-2, 2а-500-2 по ГОСТ 1770.

Пипетки с одной отметкой 2-2-10, 2-2-25, 2-2-50 по ГОСТ 29169 и градуированные 1-2-2-2 по ГОСТ 29227.

Пробирки градуированные П-2-25-14/23 ХС по ГОСТ 1770 с пробками.

Пробирки из полимерных материалов вместимостью 15 или 50 $см^3$ с завинчивающимися крышками для центрифугирования.

Цилиндры мерные 1-100-2 по ГОСТ 1770.

Секундомер механический или электронный.

Кюветы стеклянные или кварцевые с длиной оптического пути 10 мм.

Баня водяная, оснащенная терморегулятором для поддержания и контроля температуры в диапазоне от 25 °С до 100 °С, погрешностью ± 2 °С.

Центрифуга лабораторная с максимальной частотой вращения 10000 об/мин, укомплектованная различными типами роторов, обеспечивающих центробежное ускорение на дне пробирки не менее 1000 g.

Электроплитка по ГОСТ 14919.

Воронка лабораторная по ГОСТ 25336 типа В диаметром 56 мм и высотой 80 мм.

Фильтр мембранный с диаметром пор 0,45 мкм с насадкой на шприц.

Шприц из полимерного материала одноразовый по ГОСТ ISO 7886-1.

Фильтры обеззоленные.

L-Пролин [(*S*)-Пирролидин-2-карбоновая кислота, $C_5H_9NO_2$], с массовой долей основного вещества не менее 99,5 %.

Эфир этиленгликоля моноэтиловый (этилцеллозольв, $C_2H_5OC_2H_4OH$), с массовой долей основного вещества не менее 99,8 %.

Нингидрин 1-водный, с массовой долей основного вещества не менее 99 %.

Бутилацетат по ГОСТ 22300, х. ч.

Поливинилпирролидон, со средним значением молекулярной массы 12600.

Вода по ГОСТ ISO 3696, не ниже 2-й степени чистоты.

Кислота муравьиная по ГОСТ 5848, ч. д. а.

Натрий сернокислый безводный (Na_2SO_4) по ГОСТ 4166, ч. д. а.

Допускается применение других средств измерений, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам, а также посуды, реактивов и материалов, по качеству не хуже вышеуказанных.

5 Отбор и подготовка проб

5.1 Отбор проб — по ГОСТ 26313, подготовка лабораторных проб — по ГОСТ 26671.

5.2 Концентрированную соковую продукцию восстанавливают водой до достижения значения массовой доли растворимых сухих веществ в соответствующих восстановленных соках (пюре), указанных в [1].

Соковую продукцию с массовой концентрацией пролина более 50 мг/дм^3 разбавляют водой, но не более чем в 10 раз.

Соковую продукцию, содержащую не растворимые в воде вещества или мякоть, центрифугируют с фактором разделения 1000 g или фильтруют в пробирку через мембранный или обеззоленный фильтр.

Окрашенную соковую продукцию обесцвечивают путем добавления (0,15 ± 0,05) г поливинилпирролидона на каждые 2 см^3 пробы, центрифугируют при скорости вращения 4000 мин$^{-1}$ в течение 10 мин и фильтруют в пробирку через мембранный или обеззоленный фильтр.

6 Условия проведения измерений

6.1 При подготовке к проведению измерений и проведении измерений соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха .....(20 ± 5) °С;
- атмосферное давление.....(97 ± 10) кПа;
- относительная влажность..... от 40 % до 90 %;
- напряжение в электросети .....(220 ± 10) В;
- частота тока в электросети .....(50 ± 1) Гц.

6.2 В помещениях, предназначенных для проведения измерений, не должно быть загрязненности воздуха рабочей зоны пылью, агрессивными веществами, должны отсутствовать вибрация или другие факторы, влияющие на измерение массы и объема.

7 Подготовка спектрофотометра к работе

Включение и подготовку прибора к работе, вывод его на рабочий режим и выключение по окончании работы осуществляют в соответствии с руководством по эксплуатации.

8 Подготовка к проведению измерений

8.1 Приготовление раствора нингидрина в этилцеллозольве с массовой концентрацией 30 г/дм^3

В мерной колбе вместимостью 100 см^3 взвешивают (3,00 ± 0,01) г нингидрина, растворяют в небольшом количестве этилцеллозольва, доводят объем до метки и тщательно перемешивают.

Срок хранения раствора при температуре от 5 °С до 10 °С — не более 1 мес.

8.2 Приготовление градуировочных растворов пролина

8.2.1 Приготовление основного раствора пролина с массовой концентрацией 100 мг/дм^3

(0,050 ± 0,001) г пролина количественно переносят в мерную колбу вместимостью 500 см^2. Добавляют небольшое количество воды, перемешивают содержимое до полного растворения кристаллов пролина, доводят объем раствора до метки водой и тщательно перемешивают.

Срок хранения раствора в склянке из темного стекла — не более 1 мес.

8.2.2 Приготовление рабочих растворов пролина для построения градуировочной характеристики проводят разведением из основного раствора, приготовленного по 8.2.1, в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1

№ градуировочного раствора	Объем мерной колбы, $см^3$	Способ приготовления	Массовая концентрация пролина в рабочем растворе C_i, $мг/дм^3$
1	100	В мерную колбу помещают 5 $см^3$ основного раствора, приготовленного по 8.2.1, доводят объем до метки водой и перемешивают	5
2		В мерную колбу помещают 10 $см^3$ основного раствора, приготовленного по 8.2.1, доводят объем до метки водой и перемешивают	10
3		В мерную колбу помещают 25 $см^3$ основного раствора, приготовленного по 8.2.1, доводят объем до метки водой и перемешивают	25
4		В мерную колбу помещают 40 $см^3$ основного раствора, приготовленного по 8.2.1, доводят объем до метки водой и перемешивают	40
5		В мерную колбу помещают 50 $см^3$ основного раствора, приготовленного по 8.2.1, доводят объем до метки водой и перемешивают	50

Все рабочие растворы готовят непосредственно перед проведением измерений.

8.3 Установление градуировочной характеристики

8.3.1 Процедуру установления градуировочной характеристики проводят в соответствии с руководством пользователя программным обеспечением спектрофотометра.

Градуировочную характеристику устанавливают каждый раз перед выполнением серии измерений.

Готовят пять градуировочных растворов и пять растворов сравнения.

В пять градуированных пробирок для приготовления градуировочных растворов вносят по 1 $см^3$ каждого рабочего раствора пролина (см. таблицу 1), добавляют пипеткой по 1 $см^3$ муравьиной кислоты и по 2 $см^3$ раствора нингидрина в этилцеллозольве, подготовленного по 8.1.

Одновременно в пять градуированных пробирок для приготовления растворов сравнения вносят по 1 $см^3$ каждого градуировочного раствора пролина (см. таблицу 1), добавляют пипеткой по 1 $см^3$ муравьиной кислоты и по 2 $см^3$ этилцеллозольва.

Содержимое всех пробирок тщательно перемешивают после добавления каждого реактива. Пробирки помещают на кипящую водяную баню так, чтобы уровень воды в бане был выше уровня жидкости в пробирках. Необходимо следить за тем, чтобы вода в бане постоянно кипела.

Пробирки выдерживают на водяной бане в течение 15 мин до полного испарения в них содержимого, после чего охлаждают под водопроводной водой в течение 10 мин. В каждую пробирку вносят 10 $см^3$ бутилацетата, пробирки закрывают пробками, и окрашенное комплексное соединение экстрагируют в органическую фазу при тщательном взбалтывании.

Растворы фильтруют в кювету через обезоленный фильтр, который содержит 2—3 г безводного сульфата натрия, затем измеряют через 15 мин оптическую плотность каждого градуировочного раствора при длине волны 509 нм по отношению к раствору сравнения.

8.3.2 По оси абсцисс откладывают массовую концентрацию пролина в градуировочном растворе, $мг/дм^3$, а по оси ординат — соответствующее ей значение оптической плотности, е. о. п.

Для вычисления градуировочного коэффициента в трех различных точках полученного градуировочного графика (например, при массовых концентрациях пролина 10, 25 и 40 $мг/дм^3$)

находят соответствующие значения оптической плотности и вычисляют с помощью программного обеспечения градуировочные коэффициенты K_i, $\frac{мг/дм^3}{е.о.п.}$ или по формуле

$$K_i = \frac{C_i}{D_i}, \quad (1)$$

где C_i — массовая концентрация пролина в i-м градуировочном растворе, мг/дм^3;
D_i — оптическая плотность i-го градуировочного раствора, е. о. п.

Градуировочную характеристику считают линейной, если для каждого градуировочного раствора выполняется условие

$$\left|\overline{K} - K_j\right| > 0{,}05 \cdot \overline{K}, \quad (2)$$

где $\overline{K}$ — среднеарифметическое значение градуировочных коэффициентов, вычисленных при построении градуировочной характеристики;
K_i — градуировочный коэффициент, вычисленный по формуле (1).

За окончательное значение градуировочного коэффициента принимают среднеарифметическое значение $\overline{K}$.

Значение оптической плотности для раствора с массовой концентрацией пролина 50 мг/дм^3 не должно превышать 1,5 е. о. п.

Градуировочная характеристика считается приемлемой, если вычисленное программным обеспечением значение коэффициента корреляции для градуировочной характеристики $R^2 \geq 0{,}99$.

При невыполнении указанных условий градуировку устанавливают заново.

9 Порядок проведения измерений

9.1 Измерения лабораторных проб проводят не менее двух раз в условиях повторяемости по ГОСТ ИСО 5725-1 (подраздел 3.14).

9.2 При каждом измерении массовой концентрации пролина одновременно готовят лабораторную пробу по разделу 5 и растворы сравнения по 8.3.1.

10 Обработка и оформление результатов измерений

10.1 Массовую концентрацию пролина в пробе $C_{пр}$, мг/дм^3, вычисляют по формуле

$$C_{пр} = D \cdot \overline{K} \cdot \frac{V_2}{V_1}, \quad (3)$$

где D — оптическая плотность раствора лабораторной пробы, е. о. п.;
$\overline{K}$ — среднеарифметическое значение градуировочных коэффициентов, вычисленных при построении градуировочной характеристики, мг/дм^3/е.о.п.;
V_2 — вместимость мерной колбы, взятой для разбавления, см^3;
V_1 — объем лабораторной пробы соковой продукции, см^3.

Все вычисления проводят до третьего десятичного знака.

10.2 За результат измерений принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных измерений, если выполняется условие приемлемости

$$\frac{2 \cdot \left|C_1 - C_2\right| \cdot 100}{(C_1 + C_2)} \leq r, \quad (4)$$

где C_1, C_2 — результаты параллельных измерений массовой концентрации пролина, мг/дм^3;
r — значение предела повторяемости (см. таблицу 2), %.

10.3 Если условие приемлемости (4) не выполняется, то для проверки прецизионности в условиях повторяемости выполняют процедуры, установленные в ГОСТ ИСО 5725-6 (пункты 5.2.2, 5.2.3).

10.4 Результаты измерений регистрируют в протоколе испытаний согласно ГОСТ ИСО/МЭК 17025 с указанием метода определения (измерения).

Окончательный результат измерений в документах, предусматривающих его использование, представляют в виде

$$\overline{C} \pm 0{,}01 \cdot \delta \cdot \overline{C}, \text{ при } P = 0{,}95, \quad (5)$$

где $\overline{C}$ — среднеарифметическое значение результатов n измерений массовой концентрации пролина, признанных приемлемыми по 10.2, 10.3, мг/дм^3;

± δ — границы относительной погрешности измерений (см. таблицу 2), %.

Числовое значение результата измерений должно оканчиваться цифрой того же разряда, что и значение границ абсолютной погрешности, выраженное числом, содержащим не более двух значащих цифр.

Если массовая концентрация пролина выходит за пределы границ диапазона измерений, то приводят следующую запись в журнале: «Массовая концентрация пролина менее 5 мг/дм^3».

10.5 В протоколе испытаний указывают:

- всю информацию, необходимую для идентификации пробы (вид пробы, происхождение пробы, обозначение);
- результаты измерений, полученные в соответствии с настоящим стандартом;
- значение массовой доли растворимых сухих веществ для концентрированной соковой продукции.

11 Метрологические характеристики

При соблюдении всех условий проведения измерения спектрофотометрический метод определения массовой концентрации пролина обеспечивает получение результатов измерений с погрешностью, не превышающей значений, приведенных в таблице 2.

Таблица 2 — Диапазон измерений, значения показателей повторяемости, воспроизводимости, правильности и точности результатов измерений

Диапазон измерений массовой концентрации пролина, мг/дм^3	Показатель точности (границы относительной погрешности) ± δ, %, при P = 0,95	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости) σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости) σ_R, %	Предел повторяемости r, %, P = 0,95, n = 2
От 5 до 50 включ.	16	5	8	14
Св. 50 до 100 включ.	12	4	6	11
Св. 100 до 200 включ.	7	2	3	5,5
Св. 200 до 500 включ.	5	1	2	2,8

Примечание — Установленное численное значение границы относительной погрешности соответствует численному значению относительной расширенной неопределенности $U_{0,95}$, %, при коэффициенте охвата k = 2.

12 Требования безопасности

12.1 Условия безопасного проведения работ

При выполнении измерений необходимо соблюдать правила техники безопасности при работе в лаборатории по ГОСТ 12.1.007, требования электробезопасности при работе с электроустановками — по ГОСТ 12.1.019 и в соответствии с требованиями, изложенными в инструкциях по эксплуатации оборудования. Требования пожарной безопасности — по ГОСТ 12.1.004 и ГОСТ 12.1.018.

Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать допустимых значений по ГОСТ 12.1.005.

Остатки проб соковой продукции утилизируют в порядке, установленном в руководстве по качеству в лаборатории.

12.2 Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений, обработке и оформлению результатов допускаются инженеры-химики и лаборанты, имеющие среднеспециальное образование, опыт работы с данным оборудованием и владеющие настоящим методом.

Библиография

[1] ТР ТС 023/2011 Технический регламент Таможенного союза «Технический регламент на соковую продукцию из фруктов и овощей»

УДК 664.863.001.4:006.354 МКС 67.080.01 Н69

Ключевые слова: соковая продукция, пролин, спектрофотометрический метод, определение

Редактор *Л.Л. Штендель*

Корректор *М.В. Бучная*

Компьютерная верстка *Д.М. Кульчицкого*

Подписано в печать 08.02.2016. Формат 60x84 1/8.
Усл. печ. л. 1,40. Тираж 40 экз. Зак. 218.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»

123995 Москва, Гранатный пер., 4.
www.gostinfo.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru